# 台灣菇類育種現況與展望

陳美杏[1,*]、呂昀陞[1]、李瑋崧[1]、石信德[1]、吳寬澤[1]

[1]農業試驗所植物病理組

[*]通訊作者電子信箱：mc423@tari.gov.tw

## 摘要

優良菇類品種的育成乃是促進菇類產業蓬勃發展的推手之一，在菇類品種選育技術中，雜交育種技術最被爲廣泛使用。雜交育種主要是利用兩個來自不同親本的擔孢子進行配對組合，或是單核和雙核菌絲進行配對，然後將配對成功之菌株進行試種篩選，過去農業試驗所利用雜交育種方法育成許多菇類新品種，少部分利用誘變劑進行品種選育。然隨著近年來生物技術之進步，國內許多學者利用基因轉殖或配合原生質體技術等方式快速導入目標基因至菇類進行新品種之育成之比例漸增，亦有以菇類做爲分子農場，生產疫苗或特定二次代謝產物，作爲保健用途。早期菇類育種多以高產及品質優良爲目標，爲因應全球氣候變遷及未來菇類產業發展，育種目標將以(1)選拔耐熱品種，以減少能源消耗及降低生產成本爲目標；(2)選拔菇類生理物質含量高之品種，符合健康的新趨勢；(3) 選育可以分解大量農業廢棄物的品種，減少伐木以保育生態，同時兼顧菇類產業的永續發展。

關鍵字：菇類育種、雜交育種、誘變劑、原生質體融合、氣候變遷。

# 緒 言

優良菇類品種的育成乃是促進菇類產業蓬勃發展的推手之一，民國四十二年起國內開始推廣種植洋菇，雖自國外引進五十二個洋菇品種，但爲適應台灣的氣候，只能利用冬季種植一次，民國71年育成洋菇台農選一號品種，使得洋菇每坪平均產量由39.5公斤增加至53公斤，增加34 %的產量，民國更72年更透過雜交育種的方式育成耐高溫洋菇台農二號品種，不僅使洋菇每坪之平均產量躍升至70公斤，還打破以往只能冬季種植一次洋菇的限制，提前到十月底即可出菇，而隔年的四到五月則可進行第二次的生產，比之前多了四個月的鮮菇供應時間[9]，大大提高農民的收入。之後78年又育成台農三號，適合菇體發育的溫度範圍較廣，除可耐較高的溫度，遇到強烈寒流侵襲也不會讓菇體明顯變小[16]，加上栽培管理容易，以及堆肥發酵技術的創新，使得台灣洋菇罐頭的外銷在1960-1970年代達到世界第一，創造了台灣洋菇王國的美譽。

雖然隨著台幣的快速升值與工資增加，慢慢讓洋菇罐頭外銷失去競爭力，卻創造了國內菇類今日蓬勃發展的良好基礎，於是在1970年代，台灣首度發明以太空包的模式進行香菇生產，使得過去利用段椴木種植至少需要10個月才能採收香菇，改以太空包方式栽植三個月後即可採收，配合台灣的天然氣候，一年可以種植兩季，並使單位面積提高10倍以上，同時這樣的生產模式大量被複製在其他菇類的生產上。創造新的栽培模式縮短栽培週期當然提高產量和菇農收益，但也要有相對應的品種配合，過去生長在椴段木上的香菇品種並不適合太空包的生產，所以又針對適合太空包模式生產的品種進行篩選，因而造就今日世界各國大都以太空包生產香菇的榮景。

菇類具有豐富營養，又味道鮮美，尚且含有許多生理活性物質，如多醣體、三萜類、麥角固醇、核苷酸、蛋白多醣、核酸、有機鍺、食用纖維等，具有抗腫瘤、免疫調節、降血壓、降血糖、降膽固醇、抗細菌病毒及延緩骨質疏鬆等之保健功效[34]，因此非常具有發展潛力。由於保健風氣的盛行，近年菇類廣受重視，新興菇類如雨後春筍般地相繼推出，許多野生的菇種也陸續被開發作爲食用或藥用。這些新興或野生的品種經過馴化之後，部份可以以人工方式栽培，惟自野外採集的品種，大都產量很低，雖然可以藉著改良培養的介質養分或出菇環境的調整而增加產量，但大體上不能超越原本野生菌株的本質，因此必須藉由改良其原本之遺傳組合，導入優良性狀之基因，才能獲得可以商業化生產之菇類優良菌種，爲達成這目的，許多育種方法應運而生。因此本文針

對國內已開發之菇類品種選育技術如雜交育種法、誘變育種法、原生質體融合法和基因轉殖法等一一介紹，期能提供國內菇類生產業者或初學者的參考。

## 雜交育種

在所有菇類育種技術中，雜交育種最被爲廣泛使用，成效也最爲顯著，雜交育種方法主要以單孢雜交、單雙核雜交和多孢雜交等三種方法爲主。菇類配對和其他眞菌一樣分成同絲型(homothallic)和異絲型(heterothallic)，同絲型是指由單一個擔孢子發芽後形成之菌絲即可形成菇體，不須經由交配，大約有10 %的擔子菌是屬於同絲型。如果單孢子內只有一個核稱爲初級同絲型(primary homothallic)，孢子發芽後的菌絲很快就形成雙核的形式，雙核並無基因上的明顯差異，如草菇(*Volvariella volvacea*)；如果在擔孢子中同時存在兩個核，其所攜帶的交配因子不同，可以自行結合而產生子實體則稱爲次級同絲型(secondary homothallic)，如洋菇(*Agaricus bisporus*)。異絲型則必須兩個攜帶不同交配因子的擔孢子結合之後才能形成子實體，90 %的擔子菌屬於此類，其交配因子有分成單因子控制(unifactorial)，又稱爲雙極性(bipolar)，大約 25 %受檢的擔子菌爲單因子， 如高溫菇(*A. bitorquis*)、雞腿蘑(*Coprinus comatus*)、滑菇(*Pholiota nameko*)等。而其他部分屬於雙因子交配型(bifactorial)，又稱爲四極性(tetrapolar)必須交配因子A和交配因子B完全不同才具有親合性，兩個因子在交配過程中各自扮演著不同的功能，這一類的菇種包括蠔菇類(*Pleurotus* spp.)(例如杏鮑菇、秀珍菇、珊瑚菇、天喜菇等等)、金針菇(*Flammulina velutips*)、香菇(*Lentinula edodes*)、白木耳(*Tremella fuciformis*)、毛木耳(*A. polytricha*)等等[41,48]。

國內所育成之菇類品種以單孢雜交爲主，主要是找到兩個合適的親本，分別分離其後代單孢進行不同的雜交組合，透過染色體片段的交換和重組，選育出具有雙親優良性狀的新品種，缺點是耗費時間久，需要較多的人力進行試種，挑取單孢的技術必須受過良好的訓練，優點是大部分都可以選育出優良品系，如農業試驗所所育成之洋菇台農二號和三號、杏鮑菇農試一號(圖一)和紫丁香蘑台農一號等(圖二)，而林業試驗所的張東柱博士和王武榮先生則以不同來源之樟芝擔孢子配對找到可以在培養基出菇之樟芝菌株[27]。此外，蘑法生物科技股份有限公司也以雜交育種法育成可在較高溫度下出菇之金針菇品種(專利097128486號)，藉以節省生產過程所需的能源。現今農業試驗所菇類研究室

正在進行中的育種工作，包括香菇、舞菇、秀珍菇和茶樹菇等，皆是利用此一方式進行育種。

單雙核配對方法是由布勒(Buller)於1930年將鬼傘屬*C.lagopus*之單核菌絲和雙核菌絲配對，結果發現細胞核可由雙核菌絲移向單核菌絲，最後單核菌絲也變成雙核，這種情形被稱爲布勒現象(Buller phenomenon)[22]，在其他屬於雙極性或四極性的菇類上也會發生，因此被應用在滑菇、洋菇和香菇的育種上[23,40]。廖氏於1987年利用此法將香菇271菌株所產生的單孢單核菌絲和SL19菌株的雙核菌絲雜交育成香菇台農一號，經過3次的區域試驗後，推廣民間種植[17]。

多胞雜交通常是將許多擔孢子塗佈在同一個培養基上，經由孢子發芽後的菌絲自由交配後，將雜交成功的新菌株挑出後做進一步的篩選，過去洋菇台農選一號就是以此法育成[9]，惟這個部分屬於逢機試驗，所以較少被學者所採用，但隨著利用原生質體技術可以將雜交雙核體分離成兩個單獨的單核體[36,51]，多孢的雜交方法也可運用在菇類育種上[11]，先選出優良雜交雙核體，然後再分離出單核體進行回交，節省育種的時間。而對於一般的農民並未受過良好的育種訓練，在自己的農場裡培育採收較多周期的菇類，在栽培過程中因爲擔孢子彈射到栽培介質表面，孢子發芽後和具親合性的另一個單核菌絲配對，形成新的子實體，透過自然雜交的方式，獲得與原始栽培品種不同性狀之菌株，菇農可以自行選種，經過菇體的組織分離將其菌種純化之後，成爲新的品種。

圖一、杏鮑菇農試一號利用木屑栽培於在塑膠瓶中的出菇情形。

## 誘變劑的應用

菇類的菌絲在有絲複製的分裂過程中即會產生變異，惟其機率不高，大概只有百萬分之一[28]，有些自然的變異無法以肉眼觀察，有些則非常明顯，如白色變種的斤耳(又稱爲雪耳)、舞菇和柳松菇等。爲了提高突變發生的機率，需利用人工的方法處理，如使用誘變劑造成染色體上核苷酸之鹼基產生變異，進而影響其外表的表現性狀，甚至創造原來沒有的性狀或突破原有部分性狀表現之極限。誘變劑的使用方法簡單、處理時間短，且一次就可以獲得大量的突變菌株，然而其最大的困難在於如何從大量各式各樣的變異菌株中篩選符合育種目標需要的變異個體。由於菇類菌絲爲多細胞構造，有時菌絲互相重疊，再加上單一細胞內具有兩個或以上分開之細胞核，在未進行核融合之前，可能只有1個細胞或單一核產生突變，爲了確保在多次移植後仍不會喪失其新的性狀，菌絲體並不是一個作爲誘變的最佳材料，若要使得突變體穩定，許多學者發現改以菌絲片斷、原生質體、分生胞子或擔孢子作爲誘變的材料較爲適合[6,39]，惟使用擔孢子必須在經過雜交的過程才能產生子實體，在手續上較爲複雜，但仍被採用[8]。另外，銀耳有酵母態和菌絲態兩型，並且可以互相轉換，因此酵母態非常適合作爲誘變育種的材料，經過誘變劑之處理後再生爲菌絲態(圖三)，可以直接和香灰菌一起製作成菌種生產銀耳子實體，期能降低國內銀耳的生產成本，提高單位面積之產量。

圖二、紫丁香蘑台農一號以發酵過之堆肥種植於塑膠框中之出菇情形。

圖三、酵母態之銀耳在培養基上轉爲菌絲態生長。

誘變方法可分成物理性和化學性兩種，物理方法以紫外線、鈷60、X射線、離子束、鐳射等爲主[8,15,19,42,45]，化學誘變劑則以亞硝酸、氯化鋰、疊氮化鈉和N-甲基-N-硝基-N-亞硝基胍（N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine，NTG）等爲主[14,39]。付氏等人[1]認爲利用輻射誘變要產生高產量的食用菇菌株成功的案例並不多，主要是造成對菇類有益變異的機率小，選育工作量卻相當大，但對於菇類非有益的變異如產生少量孢子甚至是無孢的變異菌株恰可以作爲商業栽培，降低人類對於菇類孢子的過敏反應或累積在肺部的不良影響，這部份應用在杏鮑菇、秀珍菇、蠔菇上非常成功[42,45]。此外，筆者嚐嘗試以不同之誘變劑處理樟芝菌絲，篩選外表形態產生變異的菌株，然後以固態發酵的方式生產具有保健功能的二次代謝物如三萜類，經過高壓液相層析法(High pressure liquid chromatography，HPLC)分析後部分菌株確實可以產生較爲高量的代謝物。

## 原生質體技術的應用

在菇類相關研究之中，原生質體除可被應用於菇類菌種去病毒感染之技術上外[31]，還可被應用於菇類之品種選育上，特別是不同菇種融合菌株的產生，包括同屬不同種之菌株融合[13,29]，甚至不同屬間的菌株也可進行融合，進而產生新的物種[2,24,32]。近年來更被應用於轉殖粒線體DNA或是特定功能之DNA[33,35]等。原生質體主要係利用酵素將菌絲之細胞壁去除，並利用醣類或鹽類控制其滲透壓，使原生質體能維持其細胞形態，而不會死亡，而在此形態下之細胞，具有極佳之通透性，因此藉由化學或物理之方式，即可促進原生質體進行融合，而細胞的融合則可使基因部分或全部重組，進而獲得新的重組子，爲菇類提供了一種新的育種策略。

原生質體技術已廣泛應用於多種菇類育種中，如香菇、草菇、平菇、冬虫夏草、桑黃等[4,5,7,18,46]。原生質體技術雖然看似較傳統雜交育種技術更爲簡便與快速，但對許多因素皆會影響原生質體融合之效率，如：培養基成分、菌齡、酵素種類、酵素濃度、酵素作用時間、酵素作用溫度、pH 值與滲透壓等，因此在進行原生質體融合前須對此些影響因子進行最適化測試。此外，原生質體技術一次可獲得多個變異株，因此若缺乏有效且快速之檢定技術，篩選此些變異菌株即會變成一個耗時費力之工作，因此若希望以原生質體相關技術作爲菇類品種快速選育之策略，可在育種初始時，即訂定明確之育種目標，並針對

此一目標設定直接且快速之檢定與篩選方式，如此方可使原生質體技術獲得最大之效力。

目前國內利用原生質體融合技術應用在菇類品種改良上還有一些關鍵技術有待突破，例如融合子的遺傳不穩定、種間融合子難以形成子實體以及融合體難以產生優良性狀等[3]。王氏等人將細胞核轉殖至樟芝的原生質體，再生後發現這些細胞核雜交體的外表形態不穩定，普遍有扇形菌落產生[49]。由於經由原生質體再生之菌絲體本身即存在有許多變異，因此亦可直接作爲品種篩選之用，筆者曾發現原生質體再生之樟芝菌絲存在有許多形態上的變異，日本學者亦發現在香菇上有同樣的情況發生。此外原生質體搭配誘變劑的使用，更可以提高誘變的效果，所以目前的原生質體技術主要作爲原生質體再生，作爲誘變或配合生物技術作爲基因轉殖的材料之用[1]。

## 應用基因轉殖於菇類新品種之開發

基因轉殖技術大量被用在植物、動物和微生物上，利用基因轉殖技術導入新的基因比起傳統育種方式有更強之方向性與目的性[3]，徹底打破自然規律中不同種不能雜交的限制。

國內基因轉殖的困境，首先是國內對於基因轉殖作物上的安全性還在評估中，基改微生物直接食用或添加於食品之安全爭議性仍高，但基因工程改造酵素/蛋白質等技術已普遍應用於工業界或食品工業上，因此並不鼓勵利用基因轉殖改良食用菇類，但對於藥用菇類而言，大量生產有效的保健成分卻是很有發展潛力的，例如朝陽科技大學成功利用農桿菌轉殖至樟芝內，培養該轉殖菌絲體可產生大量的三萜類 [20,25]。

基因轉殖技術提供人類無限的想像空間，選殖優良性狀表現的基因爲基因轉殖的成功要件之一，中興大學葉氏等人[50]選殖靈芝之免疫球蛋白基因，而曲氏等人則利用扣減法PCR(substractive PCR)和cDNA 晶片(cDNA microarray)找出樟芝在子實體發育階段表現之基因[26]，還有許多和木質素分解酵素如漆擕(laccase)之基因也都被選殖出來[30]，將來可以藉助這些基因提高食用菇對於介質之利用率，進而提高產量或是作爲分子農場生產有用的菇類二次代謝物。

# 菇類育種未來之展望

雜交育種方法所需時間久，少則5-7年，多則達10年以上，加上菇類獨立於植物種苗法之外，新品種需申請微生物專利，而專利從送件到核可的時間至少需要兩年，這樣的速度往往趕不上市場上新品種的汰換，如能採用日本的品種登記制取代部份專利的申請，或許有助於菇類新品種之開發。另外，不管任何一種育種方法都需找到有效的篩選方法，才能縮短育種的時間，在出菇試驗之前，發展生物學檢定、生化檢定與分子生物學檢定等方法，淘汰不良的品系，以減少人力和財力之損耗。其中分子生物學之檢定法如能以分子標記輔助選拔法(marker-assisted selection, MAS)，尋找與優良性狀緊密連鎖的分子標記，例如洋菇抗細菌性褐枯病菌(由*Pseudomonas tolaasii*所引起)之基因和菇傘顏色控制基因連鎖[38]，以減少雜交育種過程中盲目的篩選過程，提高育種效率[43]。

分子標記技術近年來應用在菇類品種的鑑別上或遺傳性狀之控制[44,47]，但應用在輔助育種上還非常少，其限制的因素包括缺乏操作簡單、經濟實用且適合於大規模分析的分子標記技術[12]，以及缺乏完整的菇類遺傳圖譜，許多與特定性狀分離或緊密連鎖的分子標記正積極建構中，在不久的將來應可運用於菇類育種。

早期菇類育種多以高產及品質優良爲目標，因此選拔時以生物學之特性，如扣子體的有無、菌絲生長速度、產量高低以及子實體品質等相關性狀進行調查，做爲進一步篩選的標準，然爲因應全球氣候變遷及未來菇類產業發展，育種目標也勢必有所調整，歸納起來主要分成下列三個面向:：

一、選拔耐熱品種，以減少能源消耗及降低生產成本爲目標:

利用傳統菇舍栽培之菇類最容易受到氣候變遷之影響，例如香菇與木耳，以2009年爲例，秋天和冬天之平均氣溫較往年分別提升1.1和1.4℃，到了2010年二月分之平均氣溫達到21.3℃，使得許多香菇太空包在走菌階段，即因遇到高溫而產生菌絲死亡之現象，嚴重影響香菇太空包之走菌和成功出菇的比例，導致香菇減產，價格居高不下。而在今年度雖然冬季平均氣溫僅下降0.6℃，但由於數波寒流在新社地區皆造成5℃以下之氣溫，因此使得香菇子實體生長受到抑制，進而使得香菇產量下降。此外木耳亦有類似之現象，夏天溫度過高造成太空包內溫度超過35℃以上，影響菌絲生長活性而導致產量減少，而冬季時由於氣溫下降使得木耳生長勢減緩，甚至產生木耳無法展耳之畸型菇體情

形發生。因此，開發溫度適應較廣之香菇和木耳品種爲當務之急，當然其他以空調菇舍栽培之菇類如能提高培養或出菇溫度，也有助於節省能源，降低生產成本。

二、選拔菇類生理物質含量高之品種，符合健康的新趨勢：:

隨著人類平均壽命的增加，老年化的人口比例越來越高，再加上突然發生的一些流行疾病，使得大家對於疾病的預防越來越重視，許多研究學者大量投入動物性實驗，使得菇類的保健功效越來越了解其機制，許多有效的成分也被鑑定出來，因此篩選特定的生理活性物質含量高之品種將成爲育種的重要目標，例如舞菇的有效成分爲多醣體[37]，所以在產量高、菇形優良之選拔項目之外，還要育成多醣體含量高之品種。

三、選育可以分解大量農業廢棄物的品種，減少伐木以保育生態，同時兼顧菇類產業的永續發展：

近年來天然災害頻傳，使得國內的木屑供應量不足以應付國內菇類生產之用，雖然業者由越南進口木屑，但仍使得木屑之價格比過去上揚，增加菇農的生產成本，許多學者雖積極開發許多木屑替代資材如禾本類草桿[10]，然缺乏下游廠商配合而無法大量推廣，而國內含相當豐富的稻草，經過適當機械的處理可以直接配合太空包之裝填系統，然因稻草等農業廢棄物之化學組成和木屑有很大的不同，因此必須針對這些廢棄物篩選適合的品種，甚至選育新的品種，才能減少樹木的砍伐，同時讓菇類產業得以永續發展。

## 引用文獻


1. 付立忠、吳學謙、魏海龍、吳慶其、李海波、張新華、賈亞妮. 2005. 食用菌學報12(3):63-68。
2. 江力、黃健威、慈淩坤、盧雲峰. 2011. 茶樹菇與雞腿菇原生質體融合及再生. 食品科學 32:141-144。
3. 林芾. 2010. 我國食用菌育種現狀與展望. 農技服務 2010(8):1076-1079。
4. 朱蘊蘭、陳安徽、王陶、陳宏偉. 2010. 冬蟲夏草原生質體誘變育種研究. 食品科學31:256-260。
5. 宋春豔、尚曉冬、譚琦、劉德雲、鄭巧平、項壽南. 2008. 香菇原生質體單核體雜交後代性狀變異初探. 食用菌學報15:1-6。

6. 李蕤、虞磊、闞勁松. 2005. 金針菇菌絲斷片單細胞誘變育種的研究.合肥學院報 15(1):16-18。
7. 邱文娜、王秋穎、曾念開、王秋雯、陳磊. 2010. 桑黃原生質體融合菌株及其親本生物學特性的比較研究. 中國農學通報26:58-61。
8. 況丹、葉亞建、王飛. 2010. 杏鮑菇高產菌株的紫外線誘變選育. 安徽農業科學 38(16):8404-8405。
9. 胡開仁. 1986. 食用菇類研究. 農試所四十年發展史. p.201-220. 台灣省農業試驗所編印. 台灣. 台中。
10. 梁志欽. 2007. 以蔗渣和鋪地黍部分取代木屑栽培秀珍菇的研究. p.61. 2007大型眞菌研討會論文集. 明道大學，彰化。
11. 張筱梅、張煥英、張淵、苗曉燕. 2008. 茶薪菇多孢快速育種簡報. 中國食用菌 27(3):14-16。
12. 張瑞穎、胡丹丹、左雪梅、張金霞、胡清秀. 2011. 分子標記技術在食用菌遺傳育種中的應用. 中國食用菌 30(1):3-7。
13. 郭成金、趙潤、朱文碧. 2010. 冬蟲夏草與蛹蟲草原生質體融合初探. 食品科學 31:165-171。
14. 董玉瑋、曹澤虹、苗敬芝、呂兆啓、周衛東、李文、王乃馨. 2011. 氯化鋰誘變赤靈芝原生質體選育高鍺菌株的研究. 食品科技 36:18-22。
15. 陳恒雷、武寶山、石偉娜、曾憲賢. 2010. 阿魏菇多糖高產菌的離子束和激光復合誘變育種。生物技術 20(1):30-33。
16 . 彭金騰. 2005. 洋菇. p. 509-603.台灣農家要覽(增修訂三版)。豐年社。
17. 廖英明. 1997. 香菇新雜交品系「台農一號」. 中華農業研究 46:142-157。
18. 趙風雲、林俊芳、葉澤波、王藝紅、楊博、郭麗瓊. 2009. 草菇高產新菌種的選育. 食用菌學報16 : 23-26。
19. 顏麗君、鄭煥春. 2008. 姬松茸60Co-$\gamma$射線輻射誘變育種試驗初報. 中國食用菌27(5):19-21。
20. 蘇毓秀. 2006. 牛樟芝利用農桿菌轉殖系統之研究. 朝陽科技大學生物技術研究所碩士論文. 95 pp。
21. Baars, J. J. P., Sonnenberg, A. S. M., Mikosch, T. S. P., and van Griensven, L. J. L. D. 2000. Development of a sporeless strain of oyster mushroom *Pleurotus ostreatus*. pp. 317-323. Proceedings of the 15th International Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi, Maastricht, Netherlands.

22. Buller, A. H. R. 1930. The biological significance of conjugated nuclei of *Coprinus lagopus* and other Hymenomycetes. Nature 126:686-689.

23. Callac, P., Spataro, C., Caille, A., and Imbernon, M. 2006. Evidence for outcrossing via the Buller phenomenon in a substrate simultaneously inoculated with spores and mycelium of *Agaricus bisporus*. Appl. Environ. Microbiol. 72:2366-2372.

24. Chakraborty, U., and Sikdar, S. R. 2008. Production and characterization of somatic hybrids raised through protoplast fusion between edible mushroom strains *Volvariella volvacea* and *Pleurotus florida*. World J. Microbiol. Biotechnol. 24:1481-1492.

25. Chen, E. C. F., Su, Y. H., Kanagarajan, S., Agrawal, D. C., and Tsay, H. S. 2009. Development of an activation tagging system for the basidiomyceteous medicinal fungus *Antrodia cinnamomea*. Mycol. Res. 113:290-297.

26. Chu, F. H., Lee, Y. R., Chou, S. J., Chang, T. T., and Shaw, J. F. 2008. Isolation and analysis of genes specifically expressed during basidiomatal development *Antrodia cinnamomea* by subtractive PCR and cDNA microarray. FEMS Microbiol. Lett. 280:150-159.

27. Chung, T. T., and Wang, W. R. 2005. Basidiomatal formation of *Antrodia cinnamomea* on artificial agar media. Bot. Bull. Acad. Sin. 46:151-154.

28. Drake, J. W., Charlesworth, B., Charlesworth, D., and Crow, J. F. 1998. Rates of Spontaneous Mutation. Genetics 148:1667-1686.

29. Dhitaphichit, P., and Pornsuriya, C. 2005. Protoplast fusion between *Pleurotus ostreatus* and *P. djamor*. Songklanakarin J. Sci. Technol. 27:975-982.

30. Giardina, P., Cannio, R., Martirani, L., Marzullo, L., Palmieri G., and San, G. 1995. Cloning and sequencing of a laccase gene from the lignin-degrading basidiomycete *Pleurotus ostreatus*. Appl. Environ. Microbiol. 61:2408-2413.

31. Guan, Y. Y., Zhou, S. J., Wang, Z., Ma, B. J., Gao, Y. Q., Qiu, L.Y., Qi, Y. C., and Shen, J. W. 2011. Effect of protoplast regeneration technology on the virus elimination of *Pleurotus ostreatus*. Mycosyst. 30:108-115.

32. Kim,C. K., Choi, E. C., and Kim, B. K. 2000. Generation of nuclear hybrids overcoming the natural barrier of incompatibility: transfer of nuclei from *Lentinula edodes* into protoplasts of *Coriolus versicolor*. Arch. Pharm. Res. 23:79-86.

33. Kuo, C. Y., Chou, S. Y., Hseu, R. S., and Huang, C. T. 2010. Heterologous expression of EGFP in enoki mushroom *Flammulina velutipes*. Botanical Studies 51:303-309.

34. Lindequist, U., Niedermeyer, T. H. J., and J lich, W.-D. 2005. The pharmacological potential of mushrooms. eCAM 2:285-299.

35. Masaki, F., Masayoshi, W., Masayuki, U., Yukitaka, F. N., and Teruyuki, M. 2007. Introduction of mitochondrial DNA from *Pleurotus ostreatus* into *Pleurotus pulmonarius* by interspecific protoplast fusion. J. Wood. Sci. 53:339-343.

36. Miyazaki, K., Maeda, H., Sunagawa, M., Tamai, Y., and Shiraishi, S. 2000. Screening of heterozygous DNA markers in shiitake (*Lentinula edodes*) using de-dikaryotization via preparation of protoplasts and isolation of four meiotic monokaryons from one basidium. J. Wood Sci. 46:395-400.

37. Mizuno, T., and Zhuang, C. 1995. Maitake, *Grifola frondosa*: pharmacological effects. Fd. Rev. Internat. 11:135-149.

38. Moquet, F., Desmerger, C., Mamoun, M., Ramos-Guedes-Lafargue, M., and Olivier, J. M. 1999. A quantitative trait locus of *Agaricus bisporus* resistance to Pseudomonas tolaasii is closely linked to nature cap color. Fungal Genetics and Biology 28:34-42.

39. Mukherjee, M., and Sengupta, S. 1986. Mutagenesis of protoplasts and regeneration of mycelium in the mushroom *Volvariella volvacea*. Appl. Environ. Microbiol. 52(6):1412-1414.

40. Nogami, T., Kamemoto, Y., Ohga, S., and Kitamoto, Y. 2002. The Buller phenomenon in a bipolar basidiomycetous mushroom, *Pholiota nameko*. Micrologia Aplicada International 14:11-18.

41. Oei, P. 1996. Mushroom Cultivation. Tool *Publications, Leiden*, Netherland. 274pp.

42. Obatake, Y., Murakami, S., Matsumoto T., and Fukumasa-Nakai, Y. 2003. Isolation and characterization of a sporeless mutant in *Pleurotus eryngii*. Mycoscience 44:33-40.

43. Okuda, Y., Murakami, S., and Matsumoto, T. 2009. Development of STS markers suitable for marker-assisted selection of sporeless trait in oyster mushroom, *Pleurotus pulmonarius*. Breeding Sci. 59:315-319.

44. Qin, L.-H., Tan, Q., Chen, M.-J., and Pan, Y.-J. 2006. Use of inter-simple sequence repeats markers to develop strain-specific SCAR for *Lentinula edodes*. FEMS Microbiol. Lett. 257:112-126.

45. Ravishankar, S., Pandey, M., Tewari, R. P., and Krishna, V. 2006. Development of sporeless/low sporing strains of Pleurotus through mutation. World J. Microbiol. Biotechnol. 22:1021-1025.

46. Ren, P. F., Li, J., Qu, L., Ren, H. X., and Gong, Z. Y. 2008. Fine xianggu mushroom (*Lentinula edodes*) strain breeding using protoplast monokaryonization technique. J. Microbiol. 28:45-48.

47. Su, H., Wang, L., Ge, Y., Feng, E., Sun, J., and Liu, L. 2008. Development of strain-specific SCAR markers for authentication of *Ganoderma lucidium*. World J. Microbiol. Biotechnol. 24:1223-1226.

48. Webster, J., and Weber, R. W. S. 2007. Introduction to Fungi. 3rd ed. Cambridge University Press. Cambridge. United Kingdom. 841pp.

49. Wang, W. M., Wu, R.-Y., and Ko, W. H. 2005. Variation and segregation following nuclear transplantation in *Antrodia cinnamomea*. Bot. Bull. Acad. Sin. 46:217-222.

50. Yeh, C. M., Yeh, C. K., Hsu, X. Y., Luo, Q. M., and Lin, M. Y. 2008. Extracellular expression of functional recombinant *Ganoderma lucidium* immunodulatory protein by Bacillus subtilis and Lactococcus lactis. Appl. Environ. Microbiol. 74:1039-1049.

51. Zhao, J., and Chang, S. T. 1993. Monokaryotization by protoplasting heterothallic species of edible mushrooms. World J. Microbiol. Biotechnol. 9:538-543.

# Overview and prospects of mushroom breeding in Taiwan

Mei-Hsing Chen[1,*], Yun-Sheng Lue[1], Wei-Sung Li[1], Hsin-Der Shih[1], and Kaun-Tzer Wu[1]

[1]Division of of Plant Pathology ,Taiwan Agricultural Research Institute, Wufeng, Taichung, Taiwan

[*]Corresponding author: e-mail:mc423@tari.gov.tw

## Abstract

Mushroom strain is one of the key factors for running a successful mushroom industry. To obtain superior strains, cross-breeding is the most widely used approach. This method of breeding is cross-mating of basidiospores collected from two compatible parents or mating between monokaryons and dikaryons. Taiwan Agricultural Research Institute bred lots of mushroom strains by using crossbreeding and those strains have released for commercial production. However, with the progress of biotechnology in recent years, other techniques such as mutagenesis, protoplast fusion and gene transformation are employed in mushroom breeding as well. Especially, mushrooms can be used as molecular farming for production of vaccines or specific secondary metabolites as a health purpose. In the future development, the researchers will have to meet the challenge of global climate change and shortage of sawdust. In addition to breeding high-yield mushroom strains, breeding objectives will be conducted in 1) selection of mushroom strains tolerant to high temperatures to reduce energy consumption and lower production costs; 2) selection of mushroom strains with high amounts of bioactive compounds for human health; 3) selection of mushroom strains with degrading a lot of varieties of agricultural wastes to reduce the use of sawdust and conserve the ecosystem, resulting in sustainable development of mushroom industry.

**Key words**: mushroom breeding, protoplast fusion, mutagen, climate change